

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 62-016497
(43)Date of publication of application : 24.01.1987

(51)Int.Cl. C07H 19/10

(21)Application number : 60-154930 (71)Applicant : TAKEDA CHEM IND LTD
(22)Date of filing : 12.07.1985 (72)Inventor : FUJIWARA YOSHITAKA
HIDAKA HIROAKI
SHIBATA TETSUO

(54) PURIFICATION OF CYTIDINE-5'-DIPHOSPHATE CHOLINE

(57)Abstract:

PURPOSE: To purify the titled compound economically on an industrial scale, by contacting an aqueous solution of crude cytidine-5'-diphosphate choline with a strongly acidic ion exchange resin and a weakly basic ion exchange resin, thereby specifically adsorbing and removing the impurity components from the solution.

CONSTITUTION: An aqueous solution of a chemically synthesized crude cytidine-5'-diphosphate choline (abbreviated as CDP-choline) is made to contact with a strongly acidic ion exchange resin (e.g. a resin produced by sulfonating a crosslinked polystyrene) and a weakly basic ion exchange resin, preferably by using a column, and usually, the treated aqueous solution is concentrated. The CDP-choline can be crystallized by purifying the concentrated solution with an alcohol. The CDP-choline solution used as the raw material has a CDP-choline concentration of preferably 3W10wt%.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
 ⑪ 公開特許公報 (A) 昭62-16497

⑤Int.Cl.
C 07 H 19/10

識別記号 厅内整理番号
 6742-4C

⑥公開 昭和62年(1987)1月24日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑦発明の名称 シチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法

⑧特 願 昭60-154930

⑨出 願 昭60(1985)7月12日

⑩發 明 者 藤 原 好 孝 光市岩狩町184番地の3

⑪發 明 者 日 高 博 明 山口県熊毛郡熊毛町大字大河内700番地の421

⑫發 明 者 柴 田 鉄 夫 下松市大字生野屋942番地の1

⑬出 願 人 武田薬品工業株式会社 大阪市東区道修町2丁目27番地

⑭代 理 人 弁理士 岩 田 弘

明細書

1. 発明の名称

シチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法

2. 特許請求の範囲

化学的合成法により製造された粗製のシチジン-5'-ジリン酸コリンの水溶液を強酸性イオン交換樹脂および弱塙基性イオン交換樹脂と接触させることを特徴とするシチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明はシチジン-5'-ジリン酸コリン(以下、CDP-コリンと称する。)の精製法に関する。

従来の技術

CDP-コリンは脳代謝試験剤として用いられている物質であって、その製造法としては微生物を用いる方法と化学的に合成する方法とが知られている。

化学的合成法によるCDP-コリンの製造法と

しては、たとえばシチジン-5'-モノリン酸(以下、5'-CMPと略称する。)とホスホリルコリンとを原料とし、これらをジシクロヘキシルカルボジイミドの存在下に反応させる方法[ジャーナル オブ バイオロジカル ケミストリー(J. Biol. Chem.)第222巻185頁(1956年)]、5'-CMPのアミド類とホスホリルコリンとを反応させる方法[特公昭42-1384号公報]、5'-CMPとホスホリルコリンのアミド類とを反応させる方法[特公昭45-4747号公報]などが提案されている。しかし、これらいずれの方法においても反応は定量的には進行しないで、反応生成物中には目的物であるCDP-コリンのほかに、未反応の原料や副反応により生成した副生成物が不純物として存在している。このような不純物はその種類が多いうえに、CDP-コリン自体の物理化学的性質に類似する物質も含まれており、このような不純物を含む粗製のCDP-コリンから不純物を除去するには、未だ数多くの課題が残されている。

特開昭62-16497 (2)

従来、化学的合成法により製造された粗製の CDP-コリンを精製する方法として、活性炭を用いる方法、強塩基性イオン交換樹脂を用いる方法、あるいはこれらを併用する方法が提案されている。

しかしながら、これら精製法は、いずれも CDP-コリン、さらには数種の不純物を、まず活性炭やイオン交換樹脂に吸着させ、続いて吸着された CDP-コリンと不純物とを各種溶離剤を用いて分別溶出させる方法であり、このような方法では(i)大量の活性炭あるいはイオン交換樹脂を必要とする、(ii)溶離剤として水のほかに硫酸、アンモニア、アルコールなどの各種酸、アルカリ、溶剤を必要とする、(iii)溶出液中の CDP-コリン濃度が低く、濃縮などによる CDP-コリンの採取に多量のエネルギーを必要とする、(iv)溶出に用いた酸、アルカリ、溶剤などの回収に煩雑な操作を必要とするなどの欠点があるため工業的精製法としては必ずしも有利な方法とはいえない。

問題点を解決すための手段

本発明者は、従来技術が有するこのような欠

とえば遊離のアミド、モノメチルアミド、ジエチルアミド、モルホリドなど)、またホスホリルコリンの反応性誘導体としては、たとえばホスホリルコリンのアミド類(たとえば遊離のアミド、モノメチルアミド、ジエチルアミド、モルホリドなど)などがある。本反応は、通常非水系の有機溶媒(たとえばO-クロロフェノール、トリクロゾール、アセトニトリル、ピリジンなど)中で行なわれる。このような反応により得られた粗製の CDP-コリンには未反応原料あるいはこれに起因する不純物のほかに、副反応により生成した不純物(たとえばジチジンビロリン酸エステル、シチジン-5'-ジリン酸など)が含まれている。

このような粗製の CDP-コリンから、その水溶液を調製するには反応生成物に水を加えればよい。通常 CDP-コリンの濃度がほぼ1~30重量%(詳しくは、ほぼ3~10重量%)になるように水を加える。反応は通常有機溶媒中で行なわれるが、このような場合には反応液から有機溶媒を留去して濃縮したのち水を加えて水溶液とする

点を克服すべく脱脂検討の結果、特定の2種のイオン交換樹脂を使用することにより粗製の CDP-コリン水溶液から不純物のみを特異的に吸着除去できることを見い出した。

すなわち、本発明は化学的合成法により製造された粗製のシチジン-5'-ジリン酸コリンの水溶液を強酸性イオン交換樹脂および弱塩基性イオン交換樹脂と接触させることを特徴とするシチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法である。

本発明における、化学的合成法によって製造された粗製のシチジン-5'-ジリン酸コリン(以下、単に粗製の CDP-コリンと略称する。)としては、たとえば5'-CMPまたはその反応性誘導体とホスホリルコリンまたはこれらの塩、あるいは5'-CMPとホスホリルフリンの反応性誘導体またはこれらの塩を反応させることにより製造されたものを挙げることができる。このような原料化合物を用いる CDP-コリンの製造法は、すでに公知であり、5'-CMPの反応性誘導体としては、たとえば5'-CMPのアミド類(た

か、あるいは反応液にエーテルなどを加えたのち、水で抽出することにより粗製の CDP-コリンの水溶液を得ることができる。

本発明では、このようにして得られた水溶液を強酸性イオン交換樹脂と弱塩基性イオン交換樹脂との両樹脂に接触させる。

本発明で用いることのできる強酸性イオン交換樹脂としては、 $-SO_3H$ を活性基とする強酸型のイオン交換樹脂を挙げることができ、通常架橋ポリスチレンをスルホン化した樹脂が用いられる。このような強酸性イオン交換樹脂として、たと

えばアンバーライト IR-124, 200, 25
⑩ 2(オルガノ(株)製)、ダイヤイオン P.K-
208, 216, 228, ダイヤイオン SK-
110, ダイヤイオン HPK-25, 30,
⑪ 55(三菱化成工業(株)製)、ダウエックス 50
WX8, MSC-1(ダウケミカル社(株)製)などを挙げることができる。このような強酸性イオン

特開昭62-16497(3)

交換樹脂は、H型を用いる。この樹脂の使用量は、不純物の種類あるいはその量によっても左右されるが、通常処理されるべき粗製のCDP-コリン100g当たりほぼ500~3000mlである。

また、本発明で用いることのできる弱塩基性イオン交換樹脂としては、第3級アミン、ポリアミンなどを活性基とする有効pH範囲0~9のイオン交換樹脂を挙げることができる。このような弱塩基性イオン交換樹脂としては、たとえばアン

バーライト IRA-68,93,94 IR-45 (オルガノ(株)製)、ダイアイオン WA-10,20,30 (三菱化成工業(株)製)、ダウ

エックス MWA-1,WGR (ダウケミカル(株)製)などである。このような弱塩基性イオン交換樹脂はOH型を用いる。この樹脂の使用量は、不純物の種類あるいはその量によっても左右されるが、通常処理されるべき粗製のCDP-コリンの100g当たりほぼ200~500mlである。これら両樹脂に粗製のCDP-コリンの水溶液を接

することができる。

粗製のCDP-コリンの水溶液を両樹脂に接触処理させたあとの水溶液は、そのまま濃縮し、濃縮液を常法によりアルコールで品出すことにより純品のCDP-コリン1水和物の結晶を得ることができる。

なお、粗製の、あるいは精製されたCDP-コリンの水溶液中に含まれる不純物は高速液体クロマトグラフィー(UV検出またはRI検出)を用いて分析することができる。

本発明の作用効果

本発明の精製法によれば、粗製のCDP-コリンに含まれる不純物成分のみが選択的に吸着除去されるため、従来の吸着炭、吸着樹脂による精製法と比べて樹脂の使用量が大幅に減少し、また水以外の特殊な溶媒剤を必要としない。このため、極めて高濃度のCDP-コリンを含有する精製液を得ることができる。また本精製法では精製率車が約97%以上であり、ほぼ定量的である。また本発明の精製法によれば、各種溶媒剤などの回収

触させる方法としては、バッチ式と塔式とを挙げることができる。一般に効率の面からみて塔を用いるのが好ましい。水溶液との接触は両樹脂のうちのいずれを先に行ってもよい。一般には強酸性イオン交換樹脂を先に接触させる。これら両樹脂は浸床式で用いてよい。不純物として無機塩が含まれている場合には、まず、強酸性イオン交換樹脂で処理し、次いで弱塩基性イオン交換樹脂で処理するのがよい。塔方式の場合にはSVがほぼ0.1~5の速度で通液する。接触温度は強酸性イオン交換樹脂の場合にはCDP-コリンの加水分解を防止するため約10℃以下が好ましく、弱塩基性イオン交換樹脂の場合には室温で行なわれる。

接触処理後の樹脂は、常法により再生することができる。すなわち強酸性イオン交換樹脂については、たとえば塩酸などの強酸の水溶液を用いてOH型に再生することができる。また弱塩基性イオン交換樹脂については、たとえば水酸化ナトリウムなどのアルカリの水溶液を用いてOH型に再生

操作が不要となるなどの利点を有している。

このように本発明は工業上極めて有用な精製法である。

以下実施例を挙げて本発明を更に具体的に説明する。

実施例 1

30gのCDP-コリン、7gのホスホリルコリンおよび1.5gの5'-CMPを含有する粗製のCDP-コリンの水溶液500mlを強酸性イオン交換樹脂充填塔[塔内径1.5cmの二重管式クロマト塔にダイアイオン HPK-25,42~60メッシュ、H型400mlを充填(樹脂層の高さ22.5cm)したもの、外筒には5℃の冷水を通じておく]にSVが0.5の速度で通液し、通液後700mlの水を用いて水洗(SV=0.5)した。この間CDP-コリンを含有する合計950mlの溶出液を採液した。高速液体クロマトグラフィー(RI検出)による分析の結果、この溶出液中のホスホリルコリンの量は0.1g(除去率98.5%)、

特開昭62-16497 (4)

5' - CMP の量は 1.5 g であることを確認した。
次いでこの溶出液を弱塩基性イオン交換樹脂充填塔[塔内径 1.0 cm のクロマト塔にグ

イヤイオン^④ WA-30.0 H 型 100 ml を充填したものの(樹脂層の高さ 127 cm)に SV が 2.0 の速度で通液し、通液後 400 ml の水を用いて水洗(SV = 2.0)した。この間 CDP-コリンを含有する合計 1300 ml の溶出液を採液した。この溶出液を高速液体クロマトグラフィー(UV 検出)によって分析したところ、CDP-コリン量は 29.4 g であり、5' - CMP、その他不純物ピークは検出されなかった(CDP-コリンの回収率 98.0 %)。

実施例 2

6.5 W/V % の CDP-コリン、1.4 W/V % のホスホリルコリン、0.2 W/V % の 5' - CMP、1.0 W/V % の 5' - CMP モルホリデート、モルホリン、ジシチジンピロリン酸エステル、4-モルホリン-N,N'-ジシクロヘキシ

P-コリンが確認され、不純物ピークは認められなかった。

この CDP-コリン 含有の水溶液を濃縮し、濃縮液をアルコールで品出することにより純品の CDP-コリン 1 水和物の結晶が得られた。この結晶の元素分析値は次の通りであった。

C(%)	H(%)	N(%)	O(%)
分析値 33.30	5.65	11.02	12.30
計算値 33.21	5.57	11.07	12.24

実施例 3

遊離のホスホリルコリン 1.2 g とシチジン-5' - リン酸アミドのジシクロヘキシルグアニジウム塩 2.8 g をオルトクロロフェノール 500 ml に溶解させ 100 ℃ で 1.6 時間反応させた。反応終了後オルトクロロフェノールを減圧で殆んど濃縮留去した。この濃縮液にエーテル 500 ml を加えこれを水 250 ml で 2 回抽出した。両抽出液を合しエーテル 100 ml で洗い水層に含まれるエーテルを減圧留去し液量を 400 ml とした。このようにして得られた粗製の CDP-コリン の水溶液を

ルカルボジイミド、遊離リン酸、その他の不純物を含有する粗製の CDP-コリン の水溶液 400 ml を強酸性イオン交換樹脂充填塔[塔内径 1.5 cm の

二重管式クロマト塔へダイヤイオン^④ HPK-30.42 ~ 60 メッシュ、H 型 400 ml を充填(樹脂層の高さ 225 cm)したもの、外筒には 5 °C の冷水を通じておく]に SV が 0.5 の速度で通液し、通液後 600 ml の水を用いて水洗(SV = 0.5)した。この間 CDP-コリンを含有する合計 720 ml の溶出液を採液した。

次いでこの溶出液を弱塩基性イオン交換樹脂充填塔[塔内径 1.0 cm のクロマト塔にアンバーライト IRA-94 S、O H 型 60 ml を充填(樹脂層の高さ 75 cm)したもの]に SV が 2.0 の速度で通液し、通液後 420 ml の水を用いて水洗(SV = 2.0)した。この間 CDP-コリンを含有する合計 1100 ml の溶出液を採液した。

この溶出液を高速液体クロマトグラフィー(UV 検出)によって分析したところ 25.5 g の CDP

実施例 2 で用いたのと同じ 2 種のイオン交換樹脂充填塔を用いて同じ条件下で処理し、得られた CDP-コリン 水溶液を高速液体クロマトグラフィーによって分析したところ不純物のピークは全く認められなかった。

この水溶液を濃縮し、濃縮液をアルコールで品出することにより純品の CDP-コリン 1 水和物の結晶 13.9 g を得た。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は実施例 2 で用いた粗製の CDP-コリン の水溶液の高速液体クロマトグラフィー(UV 検出)による分析チャートを示す。第 2 図は、強酸性イオン交換樹脂と接触させて得られた CDP-コリンを含有する溶出液の高速液体クロマトグラフィー(UV 検出)による分析チャートを示す。

第 3 図は、さらに弱塩基性イオン交換樹脂と接触させることにより得られた CDP-コリンを含有する精製液の高速液体クロマトグラフィー(UV 検出)による分析チャートを示す。P₁ は CDP-コリンのピークを示し、P₂ ~ P₄ はいずれも

特開昭62-16497 (5)

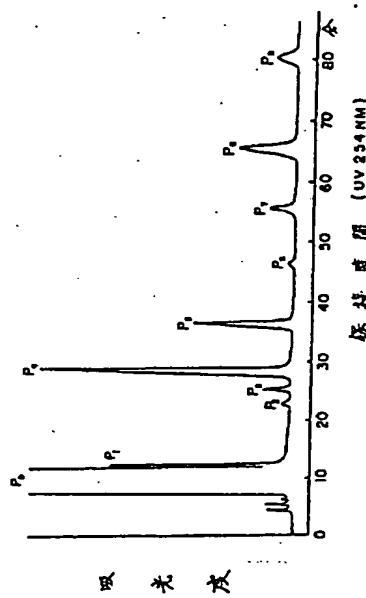
不純物のピークを示す。

代理人 齋理士 天井作次



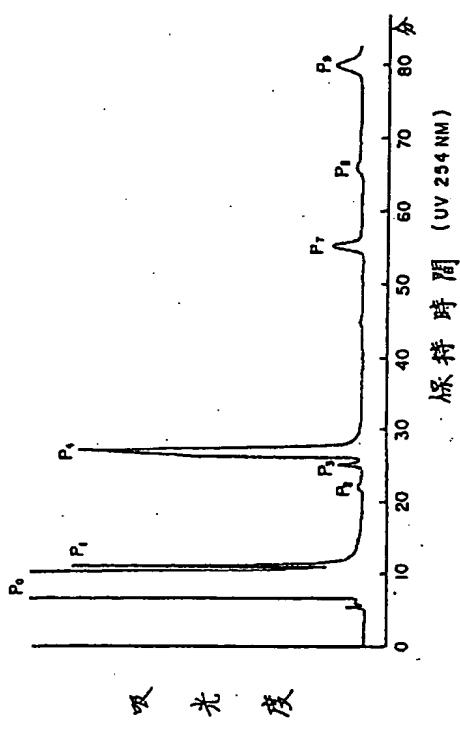
図面の序号(内容に変更なし)

第1図



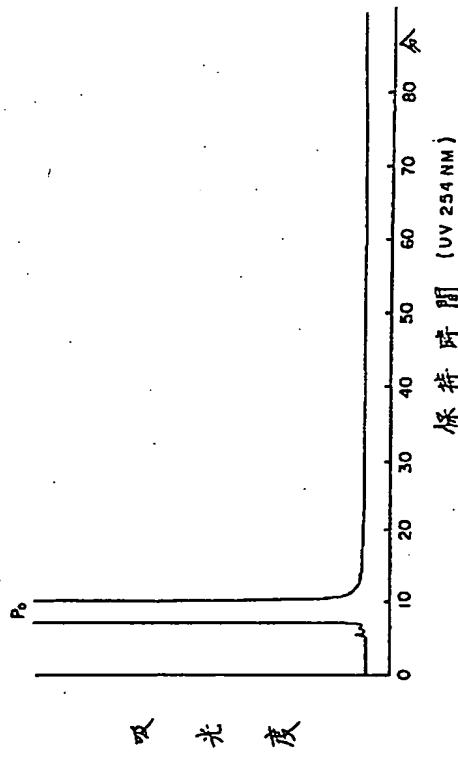
吸光度

第2図



吸光度

第3図



吸光度

特開昭62-16497(6)

手 紙 行 三 権 (方式)
昭和60年11月22日

特許庁長官殿

1. 事件の表示 昭和60年特許願第154930号
2. 発明の名称 シチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法
3. 精正をする者 事件との関係 特許出願人

住所 大阪市東区道修町2丁目27番地
名称 (293) 武田薬品工業株式会社
代表者 倉林 育四郎

4. 代理人 住所 大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内
氏名 午理士 (6022) 天井作次
東京連絡先(特許法規課)電話 278-2218, 2219

方式

5. 精正命令の日付 昭和60年10月29日(発送日)
6. 精正の対象 図面の全図
7. 精正の内容 第1図、第2図および第3図をそれぞれ別紙の通りに精正(净書)する(内容に変更なし)。
8. 添付書類の目録 (1)別紙 1通 以上

